WELTORGANISATION FUR GEISTIGES EIGENTUM

Internationale Anmeldung Veröffentlicht nach dem Vertrag über die INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

(51) Internationale Patentklassifikation 6:

C12N 15/12, C07K 14/705, 16/28, C12N 15/11, A61K 48/00, G01N 33/68, 33/53, C12Q 1/68, A01K 67/027

(11) Internationale Veröffentlichungsnummer:

WO 99/46376

A1

(43) Internationales Veröffentlichungsdatum:

16. September 1999 (16.09.99)

(21) Internationales Aktenzeichen:

PCT/EP99/01252

(22) Internationales Anmeldedatum: 26. Februar 1999 (26.02.99)

(30) Prioritätsdaten:

198 09 978.9

9. März 1998 (09.03.98)

DE

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US): BASF AK-TIENGESELLSCHAFT [DE/DE]; D-67056 Ludwigshafen (DE).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): KRÖGER, Burkhard [DE/DE]; Tilsiterstrasse 21, D-67117 Limburgerhof (DE).

(74) Gemeinsamer Vertreter: BASF AKTIENGESELLSCHAFT; D-67056 Ludwigshafen (DE).

(81) Bestimmungsstaaten: AL, AU, BG, BR, BY, CA, CN, CZ, GE, HU, ID, IL, IN, JP, KR, KZ, LT, LV, MK, MX, NO, NZ, PL, RO, RU, SG, SI, SK, TR, UA, US, eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).

Veröffentlicht

Mit internationalem Recherchenbericht. Vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche zugelassenen Frist; Veröffentlichung wird wiederholt falls Anderungen eintreffen.

(54) Title: RECEPTOR FROM THE SUPERFAMILY OF TNT-RECEPTORS FROM THE HUMAN LUNG

(54) Bezeichnung: REZEPTOR AUS DER SUPERFAMILIE DER TNF-REZEPTOREN, AUS DER MENSCHLICHEN LUNGE

(57) Abstract

The invention relates to novel proteins from the superfamily of TNT-receptors specially from the human lung and to the genes and utilization of the receptor. The invention additionally relates to antibodies which specifically bond the novel proteins. The invention also relates to a method for identifying antagonists and/or agonists of said inventive proteins, to a method for testing substances which are ligands of the proteins, to a method for qualitative and quantitative detection of the proteins, and to a method for qualitative and quantitative detection of the nucleic acids which code for the inventive proteins.

(57) Zusammenfassung

Die vorliegende Erfindung betrifft neue Proteine aus der Superfamilie der TNF-Rezeptoren speziell aus der humanen Lunge, dessen Gene und Verwendung. Weiterhin betrifft die Erfindung Antikorper, die spezifisch die Proteine binden. Die Erfindung betrifft auch Verfahren zur Identifizierung von Antagonisten und/oder Agonisten dieser erfindungsgemäßen Proteine, sowie ein Verfahren zum Testen von Sübstanzen, die Liganden der Proteine sind, und ein Verfahren zum qualitativen und quantitativen Nachweis der Proteine. Die Erfindung betrifft weiterhin ein Verfahren zum qualitativen und quantitativen Nachweis der Nukleinsäuren, die für die erfindungsgemäßen Proteine kodieren.

LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

AL	Albanien	ES	Spanien	LS	Lesotho	SI	Slowenien
AM	Armenien .	FI	Finnland	LT	Litauen	SK	Slowakei
AΤ	Österreich	FR	Frankreich	LU	Luxemburg	SN	Senegal
ΑU	Australien	GA	Gabun	LV	Lettland	SZ	Swasiland
AZ	Aserbaidschan	GB	Vereinigtes Königreich	MC	Monaco	TD	Tschad
BA	Bosnien-Herzegowina	GE	Georgien	MD	Republik Moldau	TG	Togo
ВВ	Barbados	GH	Ghana	MG	Madagaskar	TJ	Tadschikistan
BE	Belgien	GN	Guinea	MK	Die ehemalige jugoslawische	TM	Turkmenistan
BF	Burkina Faso	GR	Griechenland		Republik Mazedonien	TR	Türkei
BC	Bulgarien	HU	Ungarn	ML	Mali	TT	Trinidad und Tobago
BJ	Benin	1E	Irland	MN	Mongolei	UA	Ukraine
BR	Brasilien	IL	Israel	MR	Mauretanien	UG	Uganda
BY,	Belarus	18	Island	MW	Malawi ·	US	Vereinigte Staaten von
CA	Kanada	IT	Italien	· MX	Mexiko		Amerika
CF	Zentralafrikanische Republik	JP	Japan .	NE	Niger	UZ	Usbekistan
CG	Kongo	KE	Kenia	NL	Niederlande	VN	Vietnam
CH	Schweiz	KG	Kirgisistan	NO	Norwegen	YU	Jugoslawien
CI	Côte d'Ivoire	KP	Demokratische Volksrepublik	NZ	Neusceland	ZW	Zimbabwe
CM	Kamerun		Korea	PL	Polen		
CN	China	KR	Republik Korea	PT	Portugal		
CU	Kuba	KZ	Kasachstan	RO	Rumānien		
CZ	Tschechische Republik	LC	St. Lucia	RU	Russische Föderation		
DE	Deutschland	LI	Liechtenstein	SD	Sudan		
DK	Dänemark	LK	Sri Lanka	SE	Schweden		
EE	Estland	LR	Liberia	SG	Singapur		

REZEPTOR AUS DER SUPERFAMILIE DER TNF-REZEPTOREN, AUS DER MENSCHLICHEN LUNGE

Beschreibung

5

Die vorliegende Erfindung betrifft neue Proteine aus der Superfamilie der TNF-Rezeptoren speziell aus der humanen Lunge, dessen Gene und Verwendung. Weiterhin betrifft die Erfindung Antikörper, die spezifisch die neuen Proteine binden.

10

Die Erfindung betrifft auch Verfahren zur Identifizierung von Antagonisten und/oder Agonisten dieser erfindungsgemäßen Proteine, sowie ein Verfahren zum Testen von Substanzen, die Liganden der Proteine sind, und ein Verfahren zum qualitativen und quantitativen Nachweis der Proteine. Die Erfindung betrifft weiterhin ein Verfahren zum qualitativen und quantitativen Nachweis der Nukleinsäuren, die für die erfindungsgemäßen Proteine kodieren.

Die TNF-Rezeptorfamilie stellt eine Superfamilie integraler Membranproteine dar, die in die Signaltransduktion einer Vielzahl von Zellen involviert sind. Dazu gehören neben den TNF-Rezeptoren p55 und p75 auch noch weitere Proteine wie CD27, OX40, sowie das Fas-Antigen (Armitage, R.J., Curr. Opin. Immunol. 6(3) 1994:

25 407 ff.).

Die Rezeptoren dieser Superfamilie sind charakterisiert durch vier aminoterminale, extrazelluläre Cystein-reiche, TNFR-ähnliche Domänen mit starker Konservierung der Cystinbrücken. Es gibt

- 30 keine Homologie der intrazellulären Abschnitte der TNF-Rezeptor-Superfamilienmitglieder p55, p75, Osteoprotegerin und der beschriebenen neuen Rezeptorsequenz, was auf eine unterschiedliche Signaltransduktion schließen läßt.
- Normalerweise handelt es sich bei den Vertretern dieser Familie um membranständige Rezeptorformen. In einigen Fällen kann es zur Freisetzung der extrazellulären Komponenten/Domänen der Rezeptoren kommen, wie im Falle der TNF-Rezeptoren (siehe: Lantz, M. et al. J. Clin. Invest. 86, 1990: 1396 ff.). In anderen Fällen
- haben Vertreter dieser Familie gar keine Membranankerdomäne, sondern werden vielmehr direkt als "lösliche", sezernierte Rezeptoren freigesetzt (Simonet, W.S. et al. Cell 89, 1997: 309ff.).
- Die TNF-Rezeptorfamilie stellt eine Superfamilie integraler Membranproteine dar, die wie oben beschrieben an der Signaltransduktion in einer Vielzahl von Zellen beteiligt ist. Aufgrund der

2

vielfältigen physiologischen Bedeutung der Mitglieder der TNF-Rezeptor-Superfamilie stellte sich die Aufgabe, nach weiteren Mitgliedern dieser Familie zu suchen und sie für die Entwicklung neuer Wirkstofftargets bzw. neuer Wirkstoffe zur Verfügung zu 5 stellen.

Diese Aufgabe wurde durch das erfindungsgemäße isolierte Protein, enthaltend die in SEQ ID NO: 2 dargestellte Aminosäuresequenz oder eine daraus durch Substitution, Inversion, Insertion oder Deletion von einem oder mehreren Aminosäureresten erhältliche Sequenz, wobei wenigstens noch eine der wesentlichen biologischen Eigenschaften des in SEQ ID NO: 2 dargestellten Proteins erhalten bleibt, gelöst.

Unter der wesentlichen biologischen Eigenschaft der erfindungsgemäßen Proteine sind beispielsweise die vier aminoterminalen, extrazellulären Cystein-reichen TNFR-ähnlichen Domänen mit starker Konservierung der Cystinbrücken zu verstehen. Diese Eigenschaft ermöglicht die spezielle biologische Wirkung der Proteine. Die erfindungsgemäßen Proteine weisen außerdem keine Homologie innerhalb der typischen intrazellulären Abschnitte der TNF-Rezeptor-Superfamilienmitglieder auf, wie zu den Proteinen p55, p75. Zu dem bisher einzigen beschriebenen, löslichen Rezeptor dieser Familie dem Osteoprotegerin besitzt das erfindungsgemäße Protein keine signifikante Homologie im C-terminalen, der Cystein-reichen Region folgenden Bereich.

Das isolierte Protein und seine funktionellen Varianten läßt sich vorteilhafterweise aus der menschlichen Lunge, dem Herzen und/oder der Niere isolieren.

Eine weitere wesentliche biologische Eigenschaft ist in der Ligandenbindung zu sehen, insbesondere in Form löslicher Rezeptoren für diese Liganden.

35

Ein weiterer Gegenstand der Erfindung sind Proteine, die noch die Ligandenbindungsaktivität aufweisen und die ausgehend von der in SEQ ID NO: 2 dargestellten Aminosäuresequenz durch gezielte Veränderungen herstellbar sind. Dabei können beispielsweise bestimmte Aminosäuren durch solche mit ähnlichen physikochemischen Eigenschaften (Raumerfüllung, Basizität, Hydrophobizität etc.) ersetzt werden. Beispielsweise werden Argininreste gegen Lysinreste, Valinreste gegen Isoleucinreste oder Asparaginsäurereste gegen Glutaminsäurereste ausgetauscht. Es können aber auch ein oder mehrere Aminosäuren in ihrer Reihenfolge vertauscht, hinzugefügt oder entfernt werden, oder es können mehrere dieser Maßnahmen miteinander kombiniert werden. Die solchermaßen gegenüber

3

der SEQ ID NO: 2 veränderten Proteine besitzen wenigstens 60 %, bevorzugt wenigstens 75 %, ganz besonders bevorzugt wenigstens 85 % Homologie zu SEQ ID NO: 2, berechnet nach dem Algorithmus von Pearson und Lipman, Proc. Natl. Acad. Sci (USA) 85, No. 8, 5 1988: 2444-2448.

Ein weiterer Gegenstand der Erfindung sind Nukleinsäuresequenzen, die für die oben genannten Proteine codieren, insbesondere solche mit der in SEQ ID NO: 1 dargestellten Primärstruktur. Unter den erfindungsgemäßen Nukleinsäuresequenzen sind auch Allelvarianten zu verstehen, die wie oben für die Aminosäuresequenzen beschrieben, durch Deletion, Inversion, Insertion oder Substitution von Nukleotiden aus der in SEQ ID NO: 1 dargestellten Sequenz erhältlich sind, wobei die biologischen Eigenschaften bzw. die biologische Aktivität aber erhalten bleibt.

Weiterhin sind unter Nukleinsäuresequenzen auch funktionelle Äquivalente der Gene wie eukaryontische Homologe beispielsweise aus Evertebraten wie Caenorhabditis oder Drosophila oder 20 Vertebraten vorteilhafterweise aus Mammalia wie Maus, Rate oder Affe zu verstehen, bevorzugt aus Vertebraten, die in der Lage sind die biologische Aktivität des Gens bzw. Genprodukts zu übernehmen.

- 25 Weiterhin sind unter den erfindungsgemäßen Nukleinsäuresequenzen auch verkürzte Sequenzen, Einzelstrang-DNA oder RNA der codierenden und nichtcodierenden DNA-Sequenz zu verstehen, die die biologischen Eigenschaften aufweisen.
- 30 Unter den Nukleinsäuresequenzen sind auch Derivate wie beispielsweise Promotorvarianten zu verstehen. Die Promotoren, die den angegebenen Nukleotidsequenzen vorgeschalten sind, können dabei durch ein oder mehrere Nukleotidaustausche, durch Inversionen, durch Insertion(en) und/oder Deletion(en) verändert sein, ohne
- 35 daß aber die Funktionalität bzw. Wirksamkeit der Promotoren beeinträchtigt wird. Des weiteren können die Promotoren durch Veränderung ihrer Sequenz in ihrer Wirksamkeit erhöht oder komplett durch wirksamere Promotoren auch artfremder Organismen ausgetauscht werden.
 - Unter Derivaten sind auch Varianten zu verstehen, deren Nukleotidsequenz im Bereich von -1 bis -1000 vor dem Startkodon so verändert wurden, daß die Genexpression und/oder die Proteinexpression erhöht wird.

4

Die vorliegende cDNA der Nukleinsäuresequenz kann in dem Fachmann bekannter weise über Vektoren in geeignete Systeme eingebracht und exprimiert werden. Vorteilhafterweise werden die erfindungsgemäßen Nukleinsäuresequenzen, ihre Allelvarianten, ihre funktionellen Äquivalente oder Derivate als rekombinantes Nukleinsäurekonstrukt in einem geeigneten System eingebracht und exprimiert. Dabei werden vorteilhaft dem Fachmann bekannte geläufige Klonierungs- und Transfektionsmethoden verwendet, um die genannten Nukleinsäuren in verschiedenen Expressionssystemen zur Expression zu bringen. Diese Systeme werden beispielsweise in Current Protocols in Molecular Biology, ed. F. Ausubel et al. Wiley Interscience, New York 1997, beschrieben.

Dazu wird die erfindungsgemäße Nukleinsäuresequenz üblicherweise 15 mit genetischen Regulationselementen wie Transkriptions- und Translationssignalen funktionell verknüpft. Diese Verknüpfung kann zu je nach gewünschter Anwendung zu einer Erhöhung oder Erniedrigung der Genexpression führen. Mit den solchermaßen hergestellten rekombinanten Nukleinsäurekonstrukten werden anschlie-20 ßend Wirtsorganismen transformiert. Zusätzlich zu diesen neuen Regulationssequenzen kann die natürliche Regulation dieser Sequenzen vor den eigentlichen Strukturgenen noch vorhanden sein und gegebenenfalls genetisch verändert worden sein, so daß die natürliche Regulation ausgeschaltet und die Expression der Gene 25 erhöht wurde. Das Genkonstrukt kann aber auch einfacher aufgebaut sein, das heißt es werden keine zusätzlichen Regulationssignale vor die Sequenzen inseriert und der natürliche Promotor mit seiner Regulation wird nicht entfernt. Stattdessen wird die natürliche Regulationssequenz so mutiert, daß keine Regulation 30 mehr erfolgt und die Genexpression gesteigert wird. Auch am 3'-Ende der Nukleinsäure-Sequenzen können zusätzliche vorteilhafte regulatorische Elemente inseriert werden. Die Nukleinsäuresequenzen können in einer oder mehreren Kopien im Genkonstrukt enthalten sein.

Vorteilhafte Regulationssequenzen für das erfindungsgemäße Verfahren sind beispielsweise in Promotoren wie cos-, tac-, trp-, tet-, trp-tet-, lpp-, lac-, lpp-lac-, lacIq-, T7-, T5-, T3-, gal-, trc-, ara-, SP6-, l-PR- oder im l-PL-Promotor enthalten, die vorteilhafterweise in gram-negativen Bakterien Anwendung finden. Weitere vorteilhafte Regulationssequenzen sind beispielsweise in den gram-positiven Promotoren amy und SPO2, in den Hefepromotoren ADC1, MFa , AC, P-60, CYC1, GAPDH oder in den Pflanzenpromotoren CaMV/35S, SSU, OCS, lib4, usp, STLS1, B33, nos oder im Ubiquitin- oder Phaseolin-Promotor enthalten.

PCT/EP99/01252

WO 99/46376

Prinzipiell können alle natürlichen Promotoren mit ihren Regulationssequenzen wie die oben genannten verwendet werden. Darüber hinaus können auch synthetische Promotoren vorteilhaft verwendet werden.

Diese regulatorischen Sequenzen sollen die gezielte Expression der Nukleinsäuresequenzen und der Proteinexpression ermöglichen. Dies kann beispielsweise je nach Wirtsorganismus bedeuten, daß das Gen erst nach Induktion exprimiert oder überexprimiert wird, 10 oder daß es sofort exprimiert und/oder überexprimiert wird.

Die regulatorischen Sequenzen bzw. Faktoren können dabei vorzugsweise die Expression positiv beeinflussen und dadurch erhöhen. So kann eine Verstärkung der regulatorischen Elemente vorteilhafter-15 weise auf der Transkriptionsebene erfolgen, indem starke Transkriptionssignale wie Promotoren und/oder "Enhancer" verwendet werden. Daneben ist aber auch eine Verstärkung der Translation möglich, indem beispielsweise die Stabilität der mRNA verbessert wird.

- 20 Unter "Enhancer" sind beispielsweise DNA-Sequenzen zu verstehen, die über eine verbesserte Wechselwirkung zwischen RNA-Polymerase und DNA eine erhöhte Expression bewirken.
- 25 Eine bevorzugte Ausführungsform ist die Verknüpfung der erfindungsgemäßen Nukleinsäuresequenz mit einem Promotor, wobei der Promotor 5' up stream zu liegen kommt. Weitere Regulationssignale wie Terminatoren, Polyadenylierungssignale, Enhancer können in dem Nukleinsäurekonstrukt Anwendung finden.
- 30 Das rekombinante Nukleinsäurekonstrukt bzw. Genkonstrukt wird zur Expression in einem geeigneten Wirtsorganismus vorteilhafterweise in einen wirtsspezifischen Vektor inseriert, der eine optimale Expression der Gene im Wirt ermöglicht. Vektoren sind dem Fach-35 mann wohl bekannt und können beispielsweise aus dem Buch Cloning Vectors (Eds. Pouwels P. H. et al. Elsevier, Amsterdam-New York-Oxford, 1985, ISBN 0 444 904018) entnommen werden. Unter Vektoren
- Vektoren wie beispielsweise Phagen, Viren wie SV40, CMV, Baculo-40 virus, Adenovirus, Transposons, IS-Elemente, Phasmide, Cosmide, lineare oder zirkuläre DNA zu verstehen. Diese Vektoren können autonom im Wirtsorganismus repliziert oder chromosomal repliziert werden.

sind außer Plasmiden auch alle anderen dem Fachmann bekannten

45 Als Wirtsorganismen sind prinzipiell alle Organismen geeignet, die eine Expression der erfindungsgemäßen Nukleinsäuren, ihrer Allelvarianten, ihrer funktionellen Äquivalente oder Derivate

6

oder des rekombinanten Nukleinsäurekonstrukt ermöglichen. Unter Wirtsorganismen sind beispielsweise Bakterien, Pilze, Hefen, pflanzliche oder tierische Zellen zu verstehen. Bevorzugte Organismen sind Bakterien wie Escherichia coli, Streptomyces, Bacillus oder Pseudomonas, eukaryotische Mikroorganismen wie Saccharomyces cerevisiae, Aspergillus, höhere eukaryotische Zellen aus Tieren oder Pflanzen, beispielsweise Sf9 oder CHOZellen.

- 10 Gewünschtenfalls kann das Genprodukt auch in transgenen Organismen wie transgenen Tieren z.B. Mäusen, Schafen oder transgenen Pflanzen zur Expression gebracht werden. Bei den transgenen Organismen kann es sich auch um sogenannte Knock-Out Tiere oder Pflanzen handeln.
- Die Kombination aus dem Wirtsorganismen und den zu den Organismen passenden Vektoren wie Plasmide, Viren oder Phagen wie beispielsweise Plasmide mit dem RNA-Polymerase/Promoter System, die Phagen 1, Mu oder andere temperänte Phagen oder Transposons und/oder weiteren vorteilhaften regulatorischen Sequenzen bilden ein Expressionssystem. Bevorzugt sind unter dem Begriff Expressionssysteme beispielsweise die Kombination aus Säugetierzellen wie CHO-Zellen und Vektoren wie pcDNA3neo-Vektor, die für Säugetierzellen geeignet sind, zu verstehen.

Bei der vorliegenden Erfindung handelt es sich um eine cDNA, die für ein neues Mitglied der TNF-Rezeptor-Superfamilie kodiert.

Sequenzvergleiche mit der Aminosäuresequenz des vorliegenden

Rezeptors zeigen Ähnlichkeiten mit dem humanen Osteoprotegerin

(GenBank acc. no. U94332) und dem humanen TNFRII p75 (GenBank acc. no. U52165). In beiden Fällen beschränkt sich die Ähnlichkeit auf die C-terminale Hälfte der Proteine, die im wesentlichen der Cystein-reichen Domäne, also der Ligandenbindungsdomäne entspricht. So ist die Identität zwischen SEQ ID NO:2 (AS 34-193) und dem humanen Osteoprotegerin (AS 26-185) bei 43%; die Identität zwischen SEQ ID NO:2 (AS 3-134) und dem humanen TNFRII (p75)

(AS 8-139) bei 27%. (FastA-Programm, Pearson und Lipman, Proc. Natl. Acad. Sci (USA) 85, 2444-2448).

Die vorliegende Nukleotidsequenz wurde ursprünglich in mehreren cDNA-Bibliotheken aus humaner Lunge identifiziert. Die Analyse der Verteilung der zugehörigen mRNA in verschiedenen menschlichen Geweben ergab Expression in Lunge, Herz und Niere. Dabei wurde zwei Transkripte, 1,4 und 2,4 knt (= Kilonukleotide) lang, detektiert.

7

Das durch die vorliegende cDNA kodierte Polypeptid läßt sich zweifelsfrei als Mitglied der TNF-Rezeptor-Superfamilie identifizieren. Die für die Mitglieder der TNF-Rezeptor-Superfamilie bekannten extrazelluläre, Cystein-reiche Domäne findet sich auch in dem neuen von der erfindungsgemäßen Nukleinsäuresequenz kodierten Rezeptor. Der neue beschriebene Rezeptor verfügt aber nicht über die z.B. beim TNF-Rezeptor II (p75, Goodwin, R.G., Mol.Cell.Biol. Vol.11 No.6, 1991: 3020ff.) bekannte Membrananker-Domäne, so daß vermutet werden kann, daß es sich bei dem erfindungsgemäßen Polypeptid um einen sogenannten "löslichen" Rezeptor handelt, der von der produzierenden Zelle sezerniert wird.

Wie oben beschrieben kann das Genprodukt vorteilhaft auch in transgenen Tieren, z.B. Mäusen, Schafen oder transgenen Pflanzen 15 zur Expression gebracht werden. Ebenso ist es möglich, zellfreie Translationssysteme mit der von der Nukleinsäure abgeleiteten RNA zu programmieren.

Darüberhinaus kann das Genprodukt auch in Form therapeutisch 20 oder diagnostisch geeigneter Fragmente exprimiert werden. Zur Isolierung des rekombinanten Proteins können vorteilhaft Vektorsysteme oder Oligonukleotide verwendet werden, die die cDNA um bestimmte Nukleotidsequenzen verlängern und damit für veränderte Polypeptide kodieren, die einer einfacheren Reinigung dienen. Als 25 solche Anker sind beispielsweise sogenannte "Tags" in der Literatur z.B. Hexa-Histidin-Anker bekannt oder Epitope, die als Antigene verschiedener Antikörper erkannt werden können (beschrieben zum Beispiel in Harlow, E. and Lane, D., 1988, Antibodies: A Laboratory Manual. Cold Spring Harbor (N.Y.) Press). Diese Anker 30 können zur Anheftung der Proteine an einen festen Träger wie an einer polymeren Matrix, die beispielsweise in einer Chromatographiesäule eingefüllt sein kann, oder an einer Mikrotiterplatte oder an einen sonstigen Träger verwendet werden. Gleichzeitig können diese Anker auch zur Erkennung der Proteine verwendet 35 werden. Zur Erkennung der Proteine können außerdem übliche Marker wie Fluoreszenzfarbstoffe, Enzymmarker, die nach Reaktion mit einem Substrat ein detektierbares Reaktionsprodukt bilden, oder ein radioaktive Marker allein oder in Kombination mit den Ankern zur Derivatisierung der Proteine verwendet werden.

Ausgehend von der Peptidsequenz können synthetische Peptide generiert werden, die einzeln oder in Kombination als Antigene für die Produktion von Antikörpern eingesetzt werden. Es ist auch möglich, das Polypeptid oder Bruchstücke davon zur Generierung von Antikörpern einzusetzen.

Die Herstellung von Antikörpern ist eine dem Fachmann geläufige Tätigkeit. Mit Antikörpern sind sowohl polyklonale, monoklonale, humane oder humanisierte Antikörper oder Fragmente davon, single Chain Antikörper oder auch synthetische Antikörper gemeint.

- Die vorliegende cDNA bietet außerdem die Voraussetzung, die genomische Sequenz dieses neuen Rezeptorgens zu klonieren.

 Darunter fällt auch die dazugehörige regulatorische oder Promotorsequenz, die beispielsweise durch Sequenzierung des 5' up-
- 10 stream Bereiches der vorliegenden cDNA zugänglich wird. Die Sequenzinformation der cDNA ist auch die Grundlage für die Herstellung von antisense Molekülen oder Ribozymen. Diese genomische DNA kann ebenfalls zur Herstellung der oben beschriebenen Genkonstrukte verwendet werden.
- Eine weitere Möglichkeit des Einsatzes der Nukleotidsequenz oder Teilen davon ist die Erzeugung transgener Tiere. Transgene Überexpression oder genetischer Knockout der Sequenzinformation in geeigneten Tiermodellen kann wertvolle weitere Informationen über 20 die (Patho-) Physiologie des neuen Rezeptors liefern.

In Situationen, in denen ein Mangel an dem beschriebenen Rezeptor (Protein gemäß Anspruch 1) herrscht, können mehrere Methoden zur Substituierung eingesetzt werden. Zum einen kann das Protein,

- 25 natürlich oder rekombinant direkt, oder durch geeignete Maßnahmen in Form seiner kodierenden Nukleinsäure (DNA oder RNA) appliziert werden. Dazu können beliebige Vektoren beispielsweise sowohl virale, als auch nichtvirale Vehikel zum Einsatz kommen.
- 30 Ein weiterer Weg bietet sich durch die Stimulation des endogenen, körpereigenen Genes durch geeignete Mittel. Auch der turn-over oder die Inaktivierung z.B. durch Rezeptorkinasen können blockiert werden. Schließlich können Agonisten dieses Proteins bzw. Rezeptors zum Einsatz gelangen.

In Situationen, in denen überschüssiger Rezeptor vorliegt, können verschiedene Inhibitoren eingesetzt werden. Diese Inhibition kann sowohl durch antisense Moleküle oder Ribozyme, oder Antikörper und Oligonukleotide, als auch durch niedermolekulare Verbindungen

40 erreicht werden. Darüberhinaus kann der Rezeptor auch durch Antagonisten blockiert werden.

Weiterhin können die cDNA, die genomische DNA, der Promotor, als auch das Polypeptid, sowie Teilfragmente davon in rekombinanter

45 oder nichtrekombinanter Form zur Ausarbeitung eines Testsystems verwendet werden. Dieses Testsystem ist geeignet, die Aktivität des Promotors oder des Proteins in Anwesenheit einer Testsubstanz

zu messen. Bevorzugt handelt es sich dabei um einfache Meßmethoden (colorimetrischer, luminometrischer, fluorimetrischer,
immunologischer oder radioaktiver Art,) die die schnelle Meßbarkeit einer Vielzahl von Testsubstanzen vorteilhaft in einem
5 sogenannten High-Throughput-Screening erlauben. Diese beschriebenen Testsysteme erlauben die Bindung oder Agonisierung oder Antagonisierung von Testsubstanzen in Bezug zum neuen Rezeptor zu
beschreiben.

- 10 Die Bestimmung von Menge, Aktivität und Verteilung des Rezeptors oder seiner zugrundeliegenden mRNA im menschlichen Körper kann zur Diagnose, Prädisposition und zum Monitoring bei bestimmten Erkrankungen dienen. Desgleichen kann die Sequenz der cDNA sowie der genomischen Sequenz zu Aussagen über genetische Ursachen und Prädispositionen bestimmter Erkrankungen herangezogen werden. Dazu können sowohl DNA/RNA-Proben, sowie unnatürliche DNA/RNA-Proben, als auch Antikörper verschiedenster Art benutzt werden. Dabei dient die beschriebene Nukleotidsequenz oder Teile davon in Form geeigneter Proben zur Aufdeckung von Punktmutationen oder
 20 Deletionen/Insertionen.
 - Weiterhin kann das beschriebene Protein benutzt werden, um seine natürlichen Liganden zu bestimmen und zu isolieren. Außerdem kann das beschriebene Protein benutzt werden, um künstliche oder
- 25 synthetische Liganden zu bestimmen und zu isolieren. Dazu kann man das rekombinant hergestellte oder gereinigte natürliche Protein derart derivatisieren, daß es Modifikationen trägt, die eine Verknüpfung mit Trägermaterialien erlauben. Derart gebundenen Proteine können mit Proteinextrakten oder Peptidbibliotheken
- 30 oder anderen Quellen für Liganden inkubiert werden. Spezifisch gebundenen Peptide, Proteine oder niedermolekulare, nichtproteinogene Substanzen können so isoliert und charakterisiert werden. Unter nichtproteinogenen Substanzen sind beispielsweise niedermolekulare, chemische Substanzen (= kleiner 1000 Dalton)
- 35 zu verstehen, die beispielsweise aus der klassischen Wirkstoffsynthese oder aus sogenannten Substanzbibliotheken stammen können, die mit Hilfe der Kombinatorik synthetisiert worden sind.
- Die verwendeten Proteinextrakte können vorteilhafterweise aus der 40 Lunge, dem Herz, der Niere oder Körperflüssigkeiten wie Lymphe, Liquor, Blut oder Harn stammen.

Die oben beschriebenen Liganden können durch ein Verfahren zum Testen von Substanzen auf ihre Eigenschaft als Ligand für das

45 Protein gemäß Anspruch 1 zu fungieren, isoliert werden, das folgende Schritte umfaßt:

10

- a) rekombinante Expression des Proteins nach Anspruch 1, wobei das Protein mit einem Anker oder Marker versehen wird, der die Anheftung an einen Träger oder die Erkennung oder Anheftung an einen Träger und die Erkennung des Proteins ermöglicht,
 - b) Anheftung der in (a) genannten Proteine an Träger,
- c) Inkubation der trägergebundenen Proteine mit natürlichen
 10 Proteinextrakten oder synthetischen Peptidbibliotheken,
 - d) Isolierung und Identifizierung der spezifisch gebundenen Komponenten.
- 15 Die Proteinextrakte (c) stammen dabei vorteilhafterweise aus der Lunge, dem Herz oder der Niere.

Die erfindungsgemäße Nukleinsäuresequenz und das von ihr kodierte Protein können zur Entwicklung von Reagenzien, Agonisten und

- 20 Antagonisten, zur Diagnose und Therapie von chronischen und akuten Erkrankungen, die mit der Expression der erfindungsgemäßen Proteinsequenz bevorzugt mit der erhöhten oder erniedrigten Expression der Sequenz assoziiert sind, eingesetzt werden. Die entwickelten Reagenzien, Agonisten und/oder Antagonisten können
- 25 anschließend zur Herstellung von pharmazeutischen Zubereitungen zur Behandlung oder Diagnose von Krankheiten verwendet. Dabei kann es sich um Erkrankungen des Immunsystems, des knochenbildenden Systems, des Herz/Kreislaufsystems, des zentralen und peripheren Nervensystems, Tumoren, Transplantationsinkompatibili-

30 täten, Asthma, rheumatoide Arthritis, handeln.

Ein weiterer Gegenstand der Erfindung ist Verfahren zum qualitativen und quantitativen Nachweis einer Nukleinsäure nach Anspruch 2 in einer biologischen Probe, das folgende Schritte umfaßt:

35

a) Inkubation einer biologischen Probe mit einer bekannten Menge an Nukleinsäure gemäß Anspruch 2 oder einer bekannten Menge an Oligonukleotiden, die als Primer für eine Amplifikation der Nukleinsäure gemäß Anspruch 2 geeignet sind,

40

- Nachweis der Nukleinsäure gemäß Anspruch 2 durch spezifische Hybridisierung oder PCR-Amplifikation,
- Vergleich der Menge an hybridisierender Nukleinsäure gemäß
 Anspruch 2 oder an durch PCR Amplifikation gewonnener
 Nukleinsäure gemäß Anspruch 2 mit einem Standard.

11

Weiterhin umfaßt die Erfindung ein Verfahren zum qualitativen und quantitativen Nachweis eines Proteins gemäß Anspruch 1 in einer biologischen Probe, das folgende Schritte umfaßt:

- 5 a) Inkubation einer biologischen Probe mit einem Antikörper, der spezifisch gegen das Protein gemäß Anspruch 1 gerichtet ist,
 - b) Nachweis des Antikörper/Antigenkomplexes,
- 10 c) Vergleich der Mengen des Antikörper/Antigenkomplexes mit einem Standard.

Als Standard können biologische Proben wie Gewebestücke, Serum oder Blut dienen, die von gesunden Probanden entnommen wurden.

15

Beispiel 1

Klonierung der Rezeptor cDNA

20 Bei der Sequenzanalyse von cDNA-Klonen einer cDNA-Bibliothek aus menschlicher Lunge wurde die vorliegende cDNA-Sequenz gefunden. Die Sequenz dieses Klones ist in SEQ ID NO:1 beschrieben.

Beispiel 2

25

Expression des neuen Rezeptors in menschlichen Geweben Die Expression des neuen Rezeptors wurde in 50 verschiedenen menschlichen Geweben mittels RNA-Dotblot-Analyse untersucht. Ein Blot der Firma Clontech (#7770-1) wurde dazu mit einer Rezeptor-

30 Probe hybridisiert. Die Probe wurde durch in vitro Transkription der entsprechenden cDNA in Anwesenheit Digoxigenin-markierter Nukleotide hergestellt. Nach stringenter Waschung wurde das Transkript hauptsächlich in Lunge, Herz und Niere nachgewiesen.

35

40

40

Patentansprüche

- Isoliertes Protein, enthaltend die in SEQ ID NO: 2 dargestellte Aminosäuresequenz oder eine daraus durch Substitution, Inversion, Insertion oder Deletion von einem 'oder
 mehreren Aminosäureresten erhältliche Sequenz, wobei
 wenigstens noch eine der wesentlichen biologischen Eigenschaften des in SEQ ID NO: 2 dargestellten Proteins erhalten
 bleibt.
 - Nukleinsäuresequenz codierend für ein Protein nach Anspruch 1.
- 15 3. Nukleinsäuresequenz nach Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, daß sie für ein Protein codiert, das wenigstens 60 % Identität mit der in SEQ ID NO: 2 dargestellten Sequenz hat.
- Nukleinsäuresequenz nach Anspruch 3, dadurch gekennzeichnet,
 daß sie die in SEQ ID NO: 1 dargestellte Sequenz enthält.
 - 5. Rekombinantes Nukleinsäurekonstrukt, enthaltend eine Nukleinsäuresequenz gemäß Anspruch 2 funktionell verknüpft mit mindestens einem genetischen Regulationselement.
- Wirtsorganismus, transformiert mit einer Nukleinsäuresequenz nach Anspruch 2.
- Wirtsorganismus, transformiert mit einem rekombinanten
 Nukleinsäurekonstrukt nach Anspruch 5.
 - Transgene Tiere enthaltend ein funktionelles oder nicht funktionelles Nukleinsäurekonstrukt nach Anspruch 5.
- 35 9. Verwendung eines Proteins nach Anspruch 1 als Antigen zur Erzeugung von spezifischen Antikörpern.
 - Antikörper, die spezifisch das Protein nach Anspruch 1 erkennen.
 - 11. Verwendung einer Nukleinsäuresequenz gemäß Anspruch 2 zur Gentherapie.
- 12. Verwendung einer zu der Sequenz gemäß Anspruch 2 komplemen-45 tären Nukleinsäuresequenz zur Gentherapie.

PCT/EP99/01252

- Verfahren zur Identifizierung von Antagonisten, Agonisten oder Liganden für das Protein gemäß Anspruch 1 indem man Zellen, die das Protein gemäß Anspruch 1 exprimieren mit einer Vielzahl zu untersuchender Substanzen (Testsubstanzen) zusammenbringt, und anschließend die biologische Aktivität des Proteins in An- und Abwesenheit der Testsubstanz vergleicht.
- 14. Verfahren zum Testen von Substanzen auf ihre Eigenschaft
 10 als Ligand, Agonist oder Antagonist für das Protein gemäß
 Anspruch 1 zu fungieren, das folgende Schritte umfaßt:
- a) rekombinante Expression des Proteins nach Anspruch 1,
 wobei das Protein mit einem Anker oder Marker versehen
 wird, der die Anheftung an einen Träger oder die
 Erkennung oder Anheftung an einen Träger und die
 Erkennung des Proteins ermöglicht,
 - b) Anheftung der in (a) genannten Proteine an Träger,

20

- c) Inkubation der trägergebundenen Proteine mit natürlichen Proteinextrakten, synthetischen Peptidbibliotheken oder nichtproteinogenen Substanzen,
- 25 d) Isolierung und Identifizierung der spezifisch gebundenen Komponenten.
- 15. Verfahren zum Testen von Substanzen gemäß Anspruch 14,
 dadurch gekennzeichnet, daß der Proteinextrakt (c) aus der
 Lunge, dem Herz, der Niere oder Körperflüssigkeiten stammt.
 - 16. Verfahren zum qualitativen und quantitativen Nachweis einer Nukleinsäure nach Anspruch 2 in einer biologischen Probe, das folgende Schritte umfaßt:
- a) Inkubation einer biologischen Probe mit einer bekannten Menge an Nukleinsäure gemäß Anspruch 2 oder einer bekannten Menge an Oligonukleotiden, die als Primer für eine Amplifikation der Nukleinsäure gemäß Anspruch 2 geeignet sind,
 - Nachweis der Nukleinsäure gemäß Anspruch 2 durch spezifische Hybridisierung oder PCR-Amplifikation,
- 45 c) Vergleich der Menge an hybridisierender Nukleinsäure gemäß Anspruch 2 oder an durch PCR Amplifikation gewonnener Nukleinsäure gemäß Anspruch 2 mit einem Standard.

- 17. Verfahren zum qualitativen und quantitativen Nachweis eines Proteins gemäß Anspruch 1 in einer biologischen Probe, das folgende Schritte umfaßt:
- 5 a) Inkubation einer biologischen Probe mit einem Antikörper, der spezifisch gegen das Protein gemäß Anspruch 1 gerichtet ist,
 - b) Nachweis des Antikörper/Antigenkomplexes,

einem Standard.

10
c) Vergleich der Mengen des Antikörper/Antigenkomplexes mit

15

20

25

30

35

40

SEQUENZPROTOKOLL

(1) ALGEMEINE INFORMATION:	
(i) ANMELDER:	
(A) NAME: BASF Aktiengesellschaft	
(B) STRASSE: Carl-Bosch-Strasse 38	
(C) ORT: Ludwigshafen	
(E) LAND: Bundesrepublik Deutschland	
(F) POSTLEITZAHL: D-6700	
(G) TELEPHON: 0621/6048526	
(H) TELEFAX: 0621/6043123	
(I) TELEX: 1762175170	
(ii) ANMELDETITEL: Titel	•
(iii) ANZAHL DER SEQUENZEN: 2	
(111) ANZARL DER SEGOLIGER.	,
(iv) COMPUTER-LESBARE FORM:	
(A) DATENTRÄGER: Floppy disk	
(B) COMPUTER: IBM PC compatible	
(C) RETRIEBSSYSTEM: PC-DOS/MS-DOS	
(D) SOFTWARE: PatentIn Release #1.0, Version #1.25 (EPA)	
(2) INFORMATION ZU SEQ ID NO: 1:	*
(i) SEQUENZ CHARAKTERISTIKA:	
(A) LÄNGE: 1168 Basenpaare	
(B) ART: Nukleinsäure	
(C) STRANGFORM: Einzel	
(D) TOPOLOGIE: linear	
(ii) ART DES MOLEKÜLS: CDNS zu mRNS	
(iii) HYPOTHETISCH: NEIN	
(iii) ANTISENSE: NEIN	
(vi) URSPRÜNLICHE HERKUNFT:	
(A) ORGANISMUS: Homo sapiens	
(F) GEWEBETYP: Lung	
(ix) MERKMALE:	•
(A) NAME/SCHLÜSSEL: CDS	
(B) LAGE: 1341036	
(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 1:	
CAGCAGGATG GGCTTCTGGA CTTGGGCGGC CCCTCCGCAG GCGGACCGGG GGCAAAGGAG	60
GTGGCATGTC GGTCAGGCAC AGCAGGGTCC TGTGTCCGCG CTGAGCCGCG CTCTCCCTGC	120
TOTAGORAGG ACC ATG AGG GCG CTG GAG GGG CCA GGC CTG TCG CTG	169
Met Arg Ala Leu Glu Gly Pro Gly Leu Ser Leu Leu	
1 5 10	
TGC CTG GTG TTG GCG CTG CCT GCC CTG CTG	21
Cys Leu Val Leu Ala Leu Pro Ala Leu Leu Pro Val Pro Ala Val Arg	•
15 20 25	_ =
CCA CTG GCA GAA ACA CCC ACC TAC CCC TGG CGG GAC GCA GAG ACA GGG	26
Gly Val Ala Glu Thr Pro Thr Tyr Pro Trp Arg Asp Ala Glu Thr Gly	
30 35 40	
	,

																212
GAG	CGG	CTG	GTG	TGC	GCC	CAG	TGC	CCC	CCA	GGC	ACC	TTT	GTG	CAG	CGG	313
Glu	Arg	Leu	Val	Cys	Ala	Gln	Cys	Pro	Pro	GIÀ	Thr	Phe	Val	GID	Arg 60	
4 5					50					55					OU	361
CCG	TGC	CGC	CGA	GAC	AGC	CCC	ACG	ACG	TGT	GGC	CCG	TGT	CCA	Pro	Ara	302
Pro	Cys	Arg	Arg		Ser	Pro	Thr	Thr	Cys	GIÀ	Pro	Cys	PIU	75	AL 9	•
				65					70	000	mac	ccc	ጥልር		AAC	409
CAC	TAC	ACG	CAG	TTC	TGG	AAC	TAC	CTG	GAG.	CGC	760	Ara	ጥላም	CVS	Asn	,
His	Tyr	Thr	Gln	Phe	Trp	Asn	Tyr	Leu	GIU	Arg	Cys	Arg	90	C		
			80			~~~		85	CCN	CCC	ርርጥ	ጥርር		GCC	ACC	457
GTC	CTC	TGC	GGG	GAG	CGT	GAG	GAG	CAG	DCA	720	Mla	CVS	His	Ala	Thr	
Val	Leu		Gly	Glu	Arg	GIU	100	GIU	WIG	νιλ	ALU	105				
		95			CGC	mac.	100	»CC	ccc	שיזיי	ጥፐር	_	CAC	GCT	GGT	505
CAC	AAC	CGT	GCC	TGC	250	CVC	Ara	Thr	Glv	Phe	Phe	Ala	His	Ala	Gly .	
His		Arg	AIA	Cys	wig	115	AL 9		Cij		120					•
	110		C)C	CAC	GCA	JUCC TTO	ጥርጥ	CCA	ССТ	GGT		GGC	GTG	ATT	GCC	553
TTC	TGC	TIG	Clu	uic uic	Ala	Ser	Cvs	Pro	Pro	Gly	Ala	Gly	Val	Ile	Ala	
		Leu	Giu		130		-, -			135					140	
125	CCC	»cc	רככ	AGC	CAG	AAC	ACG	CAG	TGC	CAG	CCG	TGC	CCC	CCA	GGC	601
200	031	ACC.	Pro	Ser	Gln	Asn	Thr	Gln	Cys	Gln	Pro	Cys	Pro	Pro	Gly	
PIO	GIY	1111	110	145					150					្ស155		
»CC	רותים	' ТСА	GCC	AGC	AGC	TCC	AGC	TCA	GAG	CAG	TGC	CAG	CCC	CAC	CGC	649
Thr.	Phe	Ser	· Ala	Ser	Ser	Ser	Ser	Ser	Glu	Gln	Cys	Gln	Pro	His	Arg	
			-1.60					165	,				1/0			505
AAC	TGC	ACG	GCC	CTG	GGC	CTG	GCC	CTC	TAA	GTG	CCA	GGC	TCI	TCC	TCC	. 697
Asi	Cys	Thr	Ala	Lev	ı Gly	Leu	Ala	Leu	Asn	Val	Pro) GIA	Ser	Ser	Ser	,
		175	,		'		180)		•		185				745
CAT	GAC	ACC	CTC	TGC	ACC	AGC	TGC	ACT	GGC	TTC	ccc	CTC	AGC	ACC	AGG	743
His	ASI	Thi	Lev	Cys	Thr	Ser	Cys	Thr	Gly	Phe	Pro	Let	Ser	'Tnı	Arg	
	100	1				195	5				200) .				793
GT/	A CCZ	A GG2	A GCI	r GAC	GAG	TG	C GAC	G CG	r GCC	GTC	ATC	GAC	7.1.1.	r Gre	GCT	, , , ,
Va:	Pro	Gly	y Ala	a Glu	ı Glu	Cys	s Gli	ı Arç	g Ala	val	. 116	e Ası) PILE	e va.	220	
20!	5		•		210					215		- CM(- Ca(2 GC		841
TT	CA	G GA	CATO	TC	CATO	AA(G AG	G CTC	G CAC	افاتا د	o CIO	יי ביי	, Ch	1 Al	CTC	
Ph	e Gl	n Ası	o Ile			E Ly:	s Arg	g re	J GII	1 AIG) ne	u Det		23	a Leu 5	
				22	5			- NC	23(3 GC	e ee	CG			889
GA	G GC	c cc	G GA	G GG	C TGC	3 GG	1. CC	AL.	A CC	n Are	- A1	a Gl	v Ar	o Al	G GCC a Ala	•
G1	u Al	a Pr			y Tr) GT	y PI	24	2 2	o mr	, n.	u 02.	25	0	a Ala	
			24	0	~ ~~	m ~~	C CC			c ca	ىلى ت	C CT			G CAG	937
TT	G CA	G CT	G AA	G CT	'فاکا فا	ייר א∽	G CG	G LT	ין עלים היים	r Gl	u Le	u Le	u Gl	y Al	a Gln	
Le	u Gl			s re	u Ar	y AF	g Ar 26	0 9 né	<u>. 111</u>	. 61		26	5	_		,
		25) C	ус Ст		ם תם			G CA	G GC	G CI			G GC	C AGG	985
GA -	C GG	ان نان د ما	o CT	או הי	11 U E	o co o ar	o Le	u Le	u Gl	n Al	a Le	u Ar	g Va	l Al	a Arg	
As			a re	יי איני	u va	27	5				28	0	-			
	27	U				21	_									

ATG (CCC (GGG (CTG (slu i	Arg	AGC (Ser '	GTC Val	CGT (Glu	Arg	TTC Phe	CTC Leu	CCT Pro	GTG Val	CAC His 300	1033
285					290					295		amma		ת עייטעוי	_	1093
TGAT	CCTG	GC C	CCCT	TTA'	T TT	ATTC'	TACA	TCC	TTGG	CAC	CCCA	መልመል ር.፲.፲.፫	אא כ	TGW.	AGAGG	
					A AT	GAGG'	TTTC	TTA	AAGC	TTA	1-1-1-1	TATA	MA G		TTCAT	1168
AAAA	AAAA	AA A	AAAA													1100
(2)	INFO	RMAT	ION 3	zu s	EQ I	D NO	: 2:								-	•
			EQUE													
) LÄI					uren					•			
) AR							-						,
) TO													
			DES						NO.	2.						
	(xi)	SEQ	UENZ	BESC	HKEI	DUNG	: SI	JŲ IL	, 110.							
	.		Leu	C1.,	Clv	Dro	G1v	Len	Ser	Leu	Leu	Cys	Leu	Val	Leu	
	Arg	Ala	rea	5 5	GIY	FIU	Gly	Dea	10			•		15		
1	T 011	D~0	Ala		T.e.i	Pro	Val	Pro		Val	Arg	Gly	Val	Ala	Glu	
ΑΙα	Leu	PIO	20	Deu	200			25					30			
ma -	D~A	mor.	Tyr	Pro	מדים	Ara	Asp		Glu	Thr	Gly	Glu	Arg	Leu	Val	•
THI	PIO	35	131			5	40					45			•	
·	בומ	Gln	Cys	Pro	Pro	Glv	Thr	Phe	Val	Gln	Arg	Pro	Cys	Arg	Arg	
	50	G1	- 1-0			55					60		•	•		
) co	202	Pro	Thr	Thr	Cvs		Pro	Cys	Pro	Pro	Arg	His	Tyr	Thr	Gln	
65	Jer	110			70			-		75					80	,
Phe	TTD	Asn	Tyr	Leu	Glu	Arg	Cys	Arg	Tyr	Cys	Asn	Val	Leu	Cys	Gly	
				85			•		90					95		
Glu	Arg	Glu	Glu	Glu	Ala	Arg	Ala	Cys	His	Ala	Thr	His	Asn	Arg	Ala	
			100					105					110			
Cys	Arg	Cys	Arg	Thr	Gly	Phe	Phe	Ala	His	Ala	Gly	Phe	Cys	Leu	Glu	
		115					120					125				
His	Ala	Ser	Суѕ	Pro	Pro	Gly	Ala	Gly	Val	Ile	Ala	Pro	Gly	Thr	Pro	
	130					135					140					
Ser	Gln	Asn	Thr	Gln	Cys	Gln	Pro	Cys	Pro	Pro	Gly	Thr	Pne	Sei	Ala	
145					150					155			0	ma	160	
Ser	Ser	Ser	Ser	Ser	Glu	Gln	Cys	Gln			Arg	ASD	Cys	1711	. WIG	
				165					170		_	! _	. '	175		
Leu	Gly	Leu	Ala	Leu	Asn	Val	Pro			Ser	Ser	HIS	190	TILL	Leu	
			180					185			•				. פומ	
Cys	Thr	Ser	Cys	Thr	Gly	Phe	Pro	Leu	Ser	Thr	Arg	. vai	PIO	, GT	Ala	
		195	•		_		200		5 1	**- 3	220	205) Acr	Tie	
Glu			Glu	Arg	Ala			Asp	, hue	vai	. Alg	Pile	. 611	, naj	Ile	
	210					215		. • -	. c1-		220		. <u>አ</u> ገ=	Pri	Glu	
		Lys	Arg	Leu			Let	ı Lev	GIN	AT9	. Let	י פונ	' VTC		Glu 240	
225)	_	_	`	230			- 61-		235 - 11-		ים. ד	, G1+	ים. ז		
Gly	Trp	Gly	/ Pro			Arg	ATS	1 G1)	AIG	, WTG	י אדני	י שבו		25	ı Lys	
				245)				250						-	

245

Leu Arg Arg Leu Thr Glu Leu Gly Ala Gln Asp Gly Ala Leu
Leu Val Arg Leu Leu Gln Ala Leu
275
Glu Arg Ser Val Arg Glu Arg Phe Leu Pro Val His
290
Leu Thr Glu Leu Cln Arg Clu Arg Phe Leu Pro Val His
300

national Application No PCT/EP 99/01252

A CLASSIFI	CATION OF SUBJECT MATTER C12N15/12 C07K14/705 C07K16/28		8/00
	G01N33/68 G01N33/53 C12Q1/68	A01K67/027	
	International Patent Classification (IPC) or to both national classification	on and IPC	
B. FIELDS S	SEARCHED Sumentation searched (classification system followed by classification	symbols)	
IPC 6	C12N C07K A61K G01N C12Q A01K		
Documentation	on searched other than minimum documentation to the extent that suc	th documents are included in the fields sea	arched
	<u> </u>		
Electronic da	ata base consulted during the international search (name of data base	and, where practical, search terms used)	
		<i>r</i> ,	
	•		
C DOCUME	ENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relev	ant passages	Relevant to claim No.
P,X	WO 98 30694 A (HUMAN GENOME SCIEN	CES INC	1-7,9-17
·	(US); GENTZ; NI; EBNER; YU; RUBEN	; FENG)	
	16 July 1998 (1998-07-16)		
,	page 6. line 35 - page 7, line 3		
	page 35, line 17 - page 36, line	37	
İ	page 40, line 6 - page 44, line page 64 - page 67; claims	3	
	figures 1-3		
		,	·
1	_	/ 	
			·
1			٠.,
1		•	
	<u></u>		
X Fur	rther documents are listed in the continuation of box C.	X Patent family members are listed	in armex.
* Special o	categories of cited documents :	T* later document published after the int or priority date and not in conflict with	TONE REDUCERION OUT
"A" docum	nent defining the general state of the art which is not idered to be of particular relevance	cited to understand the principle or the invention	neory underlying the
E' earlier	r document but published on or after the international	"X" document of particular relevance; the	
al - docum	date nent which may throw doubts on priority claim(s) or	involve an inventive step when the d	OCUMENT IS TAKEN STOLES
citati	th is cited to establish the publication date of another ion or other special reason (as specified)	"Y" document of particular relevance; the cannot be considered to involve an it document is combined with one or n	nora other such docu-
othe	ment reteming to an oral disclosure, use, exhibition of or means	ments, such combination being obvi	ous to a person skilled
"P" docum	ment published prior to the international filing date but r than the priority date claimed	"&" document member of the same pater	t family
Date of th	ne actual completion of the international search	Date of mailing of the international s	earch report
	22 July 1999	28/07/1999	
Name an	of mailing address of the ISA	Authorized officer	
	European Patent Office, P.B. 5818 Patentisan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tal. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo ni,	Macchia, G	

C.(Continue	ition) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT	
Catagory *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Р,Х	EP 0 861 850 A (SMITHKLINE BEECHAM CORP (US); EMERY J.; TAN K.B.; TRUNEH A.; YOUNG P.R) 2 September 1998 (1998-09-02) abstract page 7, line 19-54 page 9, line 1 - page 10, line 55 Seq.ID:1,2 page 13 - page 16 page 16 - page 17; claims	1-7,9-17
Ρ,Χ	WO 99 04001 A (ZYMOGENETICS INC. (US); FARRAH T.M.) 28 January 1999 (1999-01-28) abstract page 43, line 8-20 page 45, line 23 - page 47, line 35 page 49, line 29 - page 50, line 26 page 53, line 31 - page 56, line 34 page 59, line 26 - page 61, line 17 page 74 - page 79; claims Seq.ID:1,2 figure 1	1-7,9-17
P,X	WO 99 07738 A (REGENERON PHARMA INC (US); PROCTER & GAMBLE COMP (US); MASIAKOWSKI ET) 18 February 1999 (1999-02-18) abstract page 6, line 1-9 page 9, line 15 - page 15, line 5 Seq.ID:1,2 page 18 - page 20; claims	1-17
Ε	WO 99 11791 A (UNI WASHINGTON (US); CHAUDHARY P.M.) 11 March 1999 (1999-03-11) abstract page 6, line 17,18; figure 9 page 26, line 21 - page 29, line 19 page 40, line 26 - page 41, line 2 page 50, line 1-22 page 53, line 25 - page 54, line 9 page 55, line 17 - page 56, line 3 page 58, line 21-33 page 79, line 1 - page 80, line 28 page 116, line 14 - page 117, line 2; example V page 129; claims 28-32	1-7,9-17
E	WO 99 14330 A (GENENTECH INC. (US); ASHKENAZY; BOTSTEIN; DODGE; GURNEY; KIM ET AL.) 25 March 1999 (1999-03-25) abstract page 23, line 12 - page 25, line 43 page 58 - page 62; claims Seq.ID:1,2 figures 1,2	1-17

national Application No PCT/EP 99/01252

	TO DE DE SULLA	FC1/E1 99/01232
	ction) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Category *	Citation of document, with indication where appropriate, of the relevant passages	
Ē	WO 99 26977 A (BIOGEN INC. (US); TSCHOPP J.) 3 June 1999 (1999-06-03) page 12, line 9-21 Seq.ID:1,2 page 14 - page 15; claims	1-7,9, 10,13-17
E	WO 99 31128 A (INCYTE PHARMA INC (US); BANDMAN 0; HILLMAN J.L; AU-YOUNG; TANG; KASER) 24 June 1999 (1999-06-24) abstract page 28, line 29-31 page 30, line 9-11 page 38, line 26 - page 46, line 24 Seq.ID:1,2 page 58 - page 60; claims	1-7,9-17
A	TAN K.B. ET AL.: "Characterization of a novel TNF-like ligand and recently described TNF ligand and TNF receptor superfamily genes and their constitutive and inducible expression in hematopoietic and non-hematopoietic cells" GENE: AN INTERNATIONAL JOURNAL ON GENES AND GENOMES, vol. 204, no. 1-2, 19 December 1997 (1997-12-19), pages 35-46, XP004100692 ISSN: 0378-1119	
A	AGGARWAL B.B. AND NATARAJAN K.: "Tumor necrosis factor: developments during the last decade" EUROPEAN CYTOKINE NETWORK, vol. 7, no. 2, 1 April 1996 (1996-04-01), pages 93-124, XP002094503 ISSN: 1148-5493	
Α	GRUSS HJ.: "Molecular, structural, and biological characteristics of the tumor necrosis factor ligand superfamily" INTERNATIONAL JOURNAL OF CLINICAL AND LABORATORY RESEARCH, vol. 26, no. 3, 1 January 1996 (1996-01-01), pages 143-159, XP002094504 ISSN: 0940-5437	

1

national Application No PCT/EP 99/01252

Category *	tion) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	GRUSS HJ. AND DOWER S.K.: "Tumor necrosis factor ligand superfamily: involvement in the pathology of malignant lymphomas" BLOOD, vol. 85, no. 12, 15 June 1995 (1995-06-15), pages 3378-3404, XPOO2094502 ISSN: 0006-4971	
		·
		·
		1

International application No. PCT/EP 99/01252

Box 1 Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)
This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons
Claims Nos because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely.
Remark: although claim(s) 9, 11, 12 relate to a method for treating the human/animal body, the search was carried out and was based on the cited effects of the compound/composition.
2. Claims Nos.: because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to suc an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. Claims Nos.: because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a)
Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)
This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:
As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers a searchable claims.
2. As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite paymer of any additional fee.
As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:
Remark on Protest
No protest accompanied the payment of additional search fees.

Information on patent family members

1 national Application No PCT/EP 99/01252

Patent document cited in search rep		Publication date		tent family ember(s)		Publication date
WD 9830694	A	16-07-1998	AU	5815798		03-08-1998
#0 3030034	• •		AU	6238698		03-08-1998
		•	MO	9830693	A	16-07-1998
FP 0861850	Α	02-09-1998	· US	5885800	Α	23-03-1999
EL 0901930	^	02 03 1330	ČA	2220852	Α	03-08-1998
	•		JP	10215886		18-08-1998
WO 9904001	Α	28-01-1999	AU	9013998	A	10-02-1999
WO 9907738	A	18-02-1999	AU	8767698	A	01-03-1999
WO 9911791	Α	11-03-1999	AU	9376498	A	22-03-1999
WO 9914330	Α	25-03-1999	AU	9497098	A	05-04-1999
WO 9926977	A	03-06-1999	NONE			
WO 9931128	Α	24-06-1999	NONE			

a. klassif IPK 6	C12N15/12 C07K14/ G01N33/68 G01N33/	/U5 CU/KID/ZO	C12N15/11 A01K67/027	A61K48/00
	G01N33/68 G01N33/		AUIRU// UZ/	
Nach der Inte	amationalen Patentkiassifikation (IPK) ode	er nach der nationalen Klassif	ikation und der IPK	
	CHIERTE GEBIETE			
Recherchier IPK 6	er Mindestprüfstoff (Klassilikationssysten C12N C07K A61K G0	n und Klassifikationssymbole 1N C12Q A01K		·
			it diese unter die recharchiert	on Gehiate tallen
Recherchier	e aber nicht zum Mindestprüfstoff gehöre	nde veronentikskrigen, sowe		
Während de	rinternationalen Recherche konsultierte e	tektronische Datenbank (Nan	ne der Datenbank und evtl. vo	enwendete Suchbegriffe)
C. ALS WE	SENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGI			
Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, sowe	eit erforderlich unter Angabe o	ier in Betracht kommenden To	Betr. Anspruch Nr.
Р,Х	WO 98 30694 A (HUMA (US); GENTZ; NI; EE 16. Juli 1998 (1998	BNER; YU; RUBEN;	ES INC FENG)	1-7,9-17
	Zusammenfassung Seite 6, Zeile 35 Seite 35, Zeile 17 Seite 40, Zeile 6 Seite 64 - Seite 6 Abbildungen 1-3	7 - Seite 36, Ze - Seite 44, Zei	eile 37	
		-/	/	
	,		,	
ĺ			·	
		•		
TY we	itere Veröffentlichungen sind der Fortsetz	ung von Feld C zu	X Siehe Anhang Patent	tamilie
• Besonde	nehmen re Kategorien von angegebenen Veröffeni entlichung, die den allgemeinen Stand-de	tlichungen :	T* Spätere Veröffentlichung, oder dem Prioritätsratum	tie nach dem internationalen Anmeldedatum veröffertlicht worden ist und mit der
E åltere	entictung, och angen bedeutsam anzusehe b Dokument, das jedoch erst am oder nac eldedatum veröffentlicht worden ist	n ist h dam internationalen	Erlindung zugrundellegen Theorie angegeben ist	sondem nur zum Verständnis des der den Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden nderer Bedautung; die beanspruchte Erlindung
sche	entlichung, die geeignet ist, einen Prioritä inen zu lassen, oder durch die das Veröfte ren im Recherchenbericht genannten Ver ider die aus einem anderen besonderen C	tsanspruch zweifelhaft er- entlichungsdatum einer öffentlichung belegt werden :	kann allein aufgrund diese erlindenscher Tätigkeit be "Y" Veröffentlichung von beso	er veronemiliening men als het doer auf nuhend betrachtet werden nderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung techer Tätinkeit begubend betrachtet
ausç "O" Veröl eine "P" Veröl	eführt) lentlichung, die sich auf eine mündliche C Benutzung, eine Ausstellung oder andere lentlichung, die vor dem internationalen A	Offenbarung, Maßnahmen bezieht Inmeldedatum, aber nach	veröffentlichungen dieser diese Verbindung für eine	ntlichung mit einer oder mehreren anderen Kategorie in Verbindung gebracht wird und in Fachmann naheliegend ist ied derseiben Patentlamille ist
dem	beanspruchten Prioritätsdatum veröffentli Abschlusses der internationalen Rechen	cht worden ist		nationalen Recherchenberichts
	22. Juli 1999		28/07/1999	
Name un	1 Postanschrift der internationalen Recher		Bevolimächtigter Bediens	steter
	Europäisches Patentamt, P.B. 581(NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 Fax: (+31-70) 340-3016		Macchia, G	

L nationales Aktenzeichen
PCT/EP 99/01252

C.(Fortsetz	ung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN	Betr. Anspruch Nr.
(ategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der In Betracht kommenden Teile	Date. Palapitadi 141
Ρ, Χ	EP 0 861 850 A (SMITHKLINE BEECHAM CORP (US); EMERY J.; TAN K.B.; TRUNEH A.; YOUNG P.R) 2. September 1998 (1998-09-02) Zusammenfassung Seite 7, Zeile 19-54 Seite 9, Zeile 1 - Seite 10, Zeile 55 Seq.ID:1,2 Seite 13 - Seite 16 Seite 16 - Seite 17; Ansprüche	1-7,9-17
Ρ,Χ	WO 99 04001 A (ZYMOGENETICS INC. (US); FARRAH T.M.) 28. Januar 1999 (1999-01-28) Zusammenfassung Seite 43, Zeile 8-20 Seite 45, Zeile 23 - Seite 47, Zeile 35 Seite 49, Zeile 29 - Seite 50, Zeile 26 Seite 53, Zeile 31 - Seite 56, Zeile 34 Seite 59, Zeile 26 - Seite 61, Zeile 17 Seite 74 - Seite 79; Ansprüche Seq.ID:1,2 Abbildung 1	1-7,9-17
Ρ,Χ	WO 99 07738 A (REGENERON PHARMA INC (US); PROCTER & GAMBLE COMP (US); MASIAKOWSKI ET) 18. Februar 1999 (1999-02-18) Zusammenfassung Seite 6, Zeile 1-9 Seite 9, Zeile 15 - Seite 15, Zeile 5 Seq.ID:1,2 Seite 18 - Seite 20; Ansprüche	1-17
E	WO 99 11791 A (UNI WASHINGTON (US); CHAUDHARY P.M.) 11. Mārz 1999 (1999-03-11) Zusammenfassung Seite 6, Zeile 17,18; Abbildung 9 Seite 26, Zeile 21 - Seite 29, Zeile 19 Seite 40, Zeile 26 - Seite 41, Zeile 2 Seite 50, Zeile 1-22 Seite 53, Zeile 25 - Seite 54, Zeile 9 Seite 55, Zeile 17 - Seite 56, Zeile 3 Seite 58, Zeile 21-33 Seite 79, Zeile 1 - Seite 80, Zeile 28 Seite 116, Zeile 14 - Seite 117, Zeile 2; Beispiel V	1-7,9-17
Ε	Seite 129; Ansprüche 28-32 WO 99 14330 A (GENENTECH INC. (US); ASHKENAZY; BOTSTEIN; DODGE; GURNEY; KIM ET AL.) 25. Mārz 1999 (1999-03-25) Zusammenfassung Seite 23, Zeile 12 - Seite 25, Zeile 43 Seite 58 - Seite 62; Ansprüche Seq.ID:1,2 Abbildungen 1,2	1-17

nationales Aktenzeichen
PCT/EP 99/01252

C.(Fortsetz	ung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN	
Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommende	n Teile Betr. Anspruch Nr.
E	WO 99 26977 A (BIOGEN INC. (US); TSCHOPP J.) 3. Juni 1999 (1999-06-03) Seite 12, Zeile 9-21 Seq.ID:1,2 Seite 14 - Seite 15; Ansprüche	1-7,9, 10,13-17
E	WO 99 31128 A (INCYTE PHARMA INC (US); BANDMAN O; HILLMAN J.L; AU-YOUNG; TANG; KASER) 24. Juni 1999 (1999-06-24) Zusammenfassung Seite 28, Zeile 29-31 Seite 30, Zeile 9-11 Seite 38, Zeile 26 - Seite 46, Zeile 24 Seq.ID:1,2 Seite 58 - Seite 60; Ansprüche	1-7,9-17
A	TAN K.B. ET AL.: "Characterization of a novel TNF-like ligand and recently described TNF ligand and TNF receptor superfamily genes and their constitutive and inducible expression in hematopoietic and non-hematopoietic cells" GENE: AN INTERNATIONAL JOURNAL ON GENES AND GENOMES, Bd. 204, Nr. 1-2, 19. Dezember 1997 (1997-12-19), Seiten 35-46, XP004100692 ISSN: 0378-1119	
A	AGGARWAL B.B. AND NATARAJAN K.: "Tumor necrosis factor: developments during the last decade" EUROPEAN CYTOKINE NETWORK, Bd. 7, Nr. 2, 1. April 1996 (1996-04-01), Seiten 93-124, XP002094503 ISSN: 1148-5493	
A	GRUSS HJ.: "Molecular, structural, and biological characteristics of the tumor necrosis factor ligand superfamily" INTERNATIONAL JOURNAL OF CLINICAL AND LABORATORY RESEARCH, Bd. 26, Nr. 3, 1. Januar 1996 (1996-01-01), Seiten 143-159, XP002094504 ISSN: 0940-5437	

I. Astionales Aktenzeichen
PCT/EP 99/01252

Kategorie*	ng) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN Bezeichnung der Verötlentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Telle	Betr. Anspruch Nr.						
A	GRUSS HJ. AND DOWER S.K.: "Tumor necrosis factor ligand superfamily: involvement in the pathology of malignant lymphomas" BLOOD, Bd. 85, Nr. 12, 15. Juni 1995 (1995-06-15), Seiten 3378-3404, XP002094502 ISSN: 0006-4971							

Internationales Aktenzeichen

Feld I Bemerkungen zu den Ansprüchen, die sich als nicht recherchierbar erwiesen haben (Fortsetzung von Punkt 2 auf Blatt 1)
Gemäß Artikel 17(2)a) wurde aus totgenden Gründen für bestimmte Ansprüche kein Recherchenbericht erstellt:
Ansprüche Nr. well sie sich auf Gegenstände beziehen, zu deren Recherche die Behörde nicht verpflichtet ist, nämlich Bemerkung: Obwohl der(die) Anspruch(üche) 9, 11, 12 sich auf ein Verfahren zur Behandlung des menschlichen/tierischen K rpers bezieht(en), wurde die Recherche durchgeführt und gründete sich auf die angeführten Wirkungen der Verbindung/Zusammensetzung.
2. Ansprüche Nr. well sie sich auf Teile der internationalen Anmeldung beziehen, die den vorgeschriebenen Anforderungen so wenig entsprechen, daß eine sinnvolle internationale Recherche nicht durchgeführt werden kann, nämlich
3. Ansprüche Nr. weil es sich dabei um abhängige Ansprüche handelt, die nicht entsprechend Satz 2 und 3 der Regel 6.4 a) abgefaßt sind.
Feld II Bemerkungen bei mangelnder Einheitlichkeit der Erfindung (Fortsetzung von Punkt 3 auf Blatt 1)
Die internationale Recherchenbehörde hat festgestellt. daß diese internationale Anmeldung mehrere Erfindungen enthält:
Da der Anmelder alle erforderlichen zusätzlichen Recherchengebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht auf alle recherchierbaren Ansprüche.
2. Da für alle recherchierbaren Ansprüche die Recherche ohne einen Arbeitsaufwand durchgeführt werden konnte, der eine zusätzliche Recherchengebühr gerechtlertigt hatte, hat die Behörde nicht zur Zahlung einer solchen Gebühr aufgefordert.
Da der Anmelder nur einige der erfordertichen zusätzlichen Recherchengebühren rechtzeltig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht nur auf die Ansprüche, für die Gebühren entrichtet worden sind, nämlich auf die Ansprüche Nr.
Der Anmelder hat die erforderlichen zusätzlichen Recherchengebühren nicht rechtzeitig entrichtet. Der internationale Recherchenbericht beschränkt sich daher auf die in den Ansprüchen zuerst erwähnte Erfindung; diese ist in folgenden Ansprüchen ertaßt:
Bemerkungen hinsichtlich eines Widerspruchs Die zusätzlichen Gebühren wurden vom Anmelder unter Widerspruch gezahlt. Die Zahlung zusätzlicher Recherchengebühren erfolgte ohne Widerspruch.

Internationales Aktenzeichen

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Feld I Bemerkungen zu den Ansprüchen, die sich als nicht recherchierbar erwiesen haben (Fortsetzung von Punkt 2 auf Blatt 1)
Gemäß Artikel 17(2)a) wurde aus folgenden Gründen für bestimmte Ansprüche kein Recherchenbericht erstellt:
1. X Ansprüche Nr. weil sie sich auf Gegenstände beziehen, zu deren Recherche die Behörde nicht verpflichtet ist. nämflich Bemerkung: Obwohl der(die) Anspruch(üche) 9, 11, 12 sich auf ein Verfahren zur Behandlung des menschlichen/tierischen K rpers bezieht(en), wurde die Recherche durchgeführt und gründete sich auf die angeführten Wirkungen der Verbindung/Zusammensetzung.
2. Ansprüche Nr. weil sie sich auf Teile der internationalen Anmeldung beziehen, die den vorgeschriebenen Anforderungen so wenig entsprechen, daß eine sinnvolle internationale Recherche nicht durchgeführt werden kann, nämlich
3. Ansprüche Nr. weil es sich dabel um abhängige Ansprüche handelt, die nicht entsprechend Satz 2 und 3 der Regel 6.4 a) abgetaßt sind.
Feld II Bemerkungen bei mangelnder Einheitlichkeit der Erfindung (Fortsetzung von Punkt 3 auf Blatt 1)
Die internationale Recherchenbehörde hat festgestellt, daß diese internationale Anmeldung mehrere Erfindungen enthält:
Da der Anmelder alle erforderlichen zusätzlichen Recherchengebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht auf alle recherchierbaren Ansprüche.
2. Da für alle recherchierbaren Ansprüche die Recherche ohne einen Arbeitsaufwand durchgeführt werden konnte, der eine zusätzliche Recherchengebühr gerechtfertigt hätte, hat die Behörde nicht zur Zahlung einer solchen Gebühr autgefordert.
Da der Anmelder nur einige der erforderlichen zusätzlichen Recherchengebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht nur auf die Ansprüche, für die Gebühren entrichtet worden sind, nämlich auf die Ansprüche Nr.
4. Der Anmelder hat die erforderlichen zusätzlichen Recherchengebühren nicht rechtzeitig entrichtet. Der internationale Recherchenbenicht beschränkt sich daher auf die in den Ansprüchen zuerst erwähnte Erfindung; diese ist in folgenden Ansprüchen erfaßt:
Bemerkungen hinsichtlich eines Widerspruchs Die zusätzlichen Gebühren wurden vom Anmelder unter Widerspruch gezahlt. Die Zahlung zusätzlicher Recherchengebühren erfolgte ohne Widerspruch.

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

im Recherchenbericht Ingeführtes Patentdokument		Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentiamilie		Datum der Veröffentlichung		
WO	9830694	A	16-07-1998	AU	5815798	A	03-08-1998
				AU	6238698	Α	03-08-1998
				MO	9830693	Α	16-07-1998
EP	0861850	A	02-09-1998	US	5885800	A	23-03-1999
				CA	2220852	Α	03-08-1998
				JP	10215886	A	18-08-1998
WO	9904001	Α	28-01-1999	AU	9013998	A	10-02-1999
WO	9907738	Α	18-02-1999	AU	8767698	Α	01-03-1999
WO	9911791	Α	11-03-1999	AU	9376498	A	22-03-1999
WO	9914330	Α	25-03-1999	AU	9497098	Α	05-04-1999
WO	9926977	Α	03-06-1999	KEINE			
WO	9931128	A	24-06-1999	KEINE			